

ISOLASI DAN SKRINING AKTINOMISETES LAUT PENGHASIL SENYAWA ANTIBAKTERI-MULTI DRUG RESISTANCE DARI SEDIMEN LAUT PANTAI GALESONG

Rahmita Burhamzah dan Herlina Rante

Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin, Makassar, Indonesia

ABSTRAK

Sampai saat ini, penyakit infeksi masih menempati urutan kedua penyakit mematikan di dunia. Sementara antibiotika kini telah banyak mengalami resistensi. Salah satu solusi dalam mengatasi masalah ini adalah dengan mencari sumber antibiotika baru, khususnya dari bahan alam, seperti aktinomisetes. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengisolasi aktinomisetes laut dari sedimen laut Pantai Galesong Kabupaten Takalar kemudian menguji aktivitas antibakterinya terhadap bakteri MDR (Multi-Drug Resistant). Metode diawali dengan isolasi aktinomisetes menggunakan metode sebar pada medium SNA (Starch Nitrate Agar) dengan memberi praperlakuan berupa pemanasan sampel pada suhu 500C selama 10 menit dan penambahan Nistatin sebagai antifungi. Penentuan aktivitas antibakteri isolat menggunakan metode uji antagonis terhadap bakteri *Escherichia coli* MDR dan *Staphylococcus aureus* MDR. Isolat dengan aktivitas antibakteri yang paling kuat diinokulasikan dalam medium produksi dan fermentasi SNB (Starch Nitrate Broth). Hasil fermentasi yang diperoleh diekstraksi dengan etil asetat dan ekstrak yang diperoleh ditentukan KHM-nya dengan membuat variasi konsentrasi secara menurun. Hasil isolasi diperoleh tiga isolat aktinomisetes, namun berdasarkan hasil uji antagonis, di antara ketiga isolat tersebut hanya ada satu isolat yang memiliki aktivitas antibakteri MDR. Isolat tersebut diberi nama isolat GLS 50-2-2 dengan ciri koloni berwarna putih keabu-abuan dengan permukaan berpasir. Isolat GLS 50-2-2 memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* MDR. Uji KHM isolat GLS 50-2-2 terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* MDR dimulai dari konsentrasi 3%, 1,5%, 0,75%, 0,375%, dan 0,1875% dengan zona bening yang hanya diperlihatkan oleh konsentrasi 3% dan 1,5% dengan diameter daya hambat berturut-turut 24 mm dan 14 mm. Isolat GLS 50-2-2 berpotensi sebagai antibakteri *S.aureus* MDR

Kata Kunci :

Aktinomisetes, laut, antibakteri-MDR

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi merupakan penyakit penyebab kematian tertinggi kedua di dunia [1], sehingga upaya dalam mengatasi penyakit ini merupakan salah satu masalah penting dalam bidang kesehatan. Antibiotika telah dikenal sebagai obat dalam mengatasi penyakit infeksi. Antibiotika adalah zat yang dihasilkan oleh suatu mikroba yang dapat menghambat atau membunuh mikroba jenis lain, khususnya yang menyebabkan penyakit [2]. Namun, saat ini telah banyak kasus resistensi antibiotika yang terjadi. Salah satu penyebabnya adalah pemakaian antibiotika secara berlebihan dan kurang terarah [3]. Bakteri yang telah dikenal resisten terhadap antibiotika saat ini antara lain adalah bakteri Gram-negatif *Escherichia coli* dan bakteri Gram-positif *Staphylococcus aureus*. Semakin meningkatnya kasus resistensi antibiotika ini telah mendorong semakin pentingnya usaha dalam pencarian sumber antibiotika baru, khususnya dari bahan alam. Kemudahan dalam memperoleh suatu antibiotika dengan ketersediaannya secara kontinyu dalam jumlah banyak di alam merupakan pertimbangan yang penting dalam upaya pencarian sumber antibiotika baru tersebut [4].

Mikroba merupakan sumber antibiotika yang mudah didapatkan dan dibudidayakan, serta tersedia secara kontinyu dalam jumlah banyak di alam dibandingkan dengan tumbuhan maupun hewan. Aktinomisetes merupakan mikroba penghasil antibiotika terbanyak dibandingkan bakteri dan kapang, yaitu sekitar 70% antibiotika yang telah dikenal berasal dari aktinomisetes,

20% dari jamur, dan 10% dari bakteri [5]. Selain itu, aktinomisetes banyak tersebar luas di alam, antara lain di tanah, dasar danau, lumpur, kompos, serta di laut [6]. Hal inilah yang mendorong semakin banyaknya penelitian-penelitian mengenai penelusuran senyawa aktif antibiotik dari aktinomisetes.

Dewasa ini, penemuan-penemuan senyawa aktif baru dari aktinomisetes tanah telah mengalami penurunan dari tahun ke tahun, sehingga banyak peneliti yang mulai mengalihkan perhatiannya kepada aktinomisetes laut [7]. Hal ini disebabkan karena biodiversitas laut yang lebih tinggi dibandingkan tanah [8]. Keanekaragaman kondisi laut yang dipengaruhi oleh banyak hal, antara lain iklim, kedalaman laut, kadar garam, dan pertemuan arus laut, sangat menjamin biodiversitas organisme yang tinggi di dalamnya, termasuk keanekaragaman metabolit sekunder yang dihasilkannya [4].

Telah banyak ditemukan aktinomisetes jenis baru dari laut, khususnya dari sedimen laut, diantaranya adalah genus *Salinispora*, *Marinispora*, dan *Thermomonospora* [9,10,11]. Antibiotika Actinomycin diperoleh dari aktinomisetes laut asosiasi spons memiliki aktivitas antibakteri yang kuat terhadap *Staphylococcus aureus* MDR [5]. Antibiotika Madamycin I diperoleh dari aktinomisetes sedimen laut Pantai Anyer yang memiliki aktivitas kuat dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis* [4].

Masuk 17-12-2019
Revisi 26-01-2020
Diterima 15-02-2020

Korespondensi

Rahmita Burhamzah
ita_burhamzah@yahoo.com

Copyright

© 2020 Majalah Farmasi
Farmakologi Fakultas
Farmasi · Makassar

Diterbitkan tanggal
16-02-2020

DOI
10.20956/mff.v23i3.9397

Dapat Diakses Daring
Pada:

<http://journal.unhas.ac.id/index.php/mff>



Permukaan bumi terdiri atas 70% lautan [12], dan Indonesia yang termasuk negara maritim dengan bentangan laut yang luas yaitu kurang lebih 3,1 juta km² atau hampir dua kali lipat daratannya, serta merupakan negara beriklim tropis memiliki potensi biodiversitas laut yang tinggi [4]. Termasuk pula Pantai Galesong yang terdapat di Kecamatan Galesong Utara, Kabupaten Takalar, Sulawesi Selatan. Namun, potensi ini belum banyak dimanfaatkan dalam usaha pencarian sumber antibiotika baru. Selama ini, eksplorasi aktinomisetes di Indonesia masih banyak terfokus pada aktinomisetes tanah [4].

Oleh karena itu, potensi ini harus dimanfaatkan dengan baik dalam usaha pencarian sumber antibiotika baru sebagai solusi atas semakin banyaknya kasus resistensi antibiotika di Indonesia. Hal ini sekaligus menjadi urgenitas atau keutamaan dilakukannya penelitian ini. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengisolasi aktinomisetes dari sedimen laut Pantai Galesong Kabupaten Takalar dan menguji aktivitas antibakterinya terhadap bakteri Gram-negatif *Escherichia coli*MDR (*Multi-Drug Resistant*) dan bakteri Gram-positif *Staphylococcus aureus*MDR (*Multi-Drug Resistant*).

METODE PENELITIAN

Pengambilan sampel

Sampel berupa sedimen laut diperoleh di Pantai Galesong Kabupaten Takalar pada kedalaman sekitar 20 cm, 50 cm, dan 1 m dari permukaan laut. Dari setiap titik, diambil sebanyak 5 g dan ditempatkan dalam *falcon tube* 15 mL dan ditutup rapat. Sampel disimpan dalam ruang dingin (suhu 4°C) sebelum dilakukan proses isolasi.

Praperlakuan dan Isolasi Aktinomisetes

Metode praperlakuan dan isolasi aktinomisetes dari sedimen laut mengikuti metode dari penelitian Burhamzah *et al* (2016) [13]. Sampel sedimen laut dipisahkan dari air lautnya dengan cara dekantasi. Selanjutnya, sebanyak 1 g padatan sampel dimasukkan ke dalam 4 mL air steril, diaduk selama 10 menit dan diamkan sampai suspensi mengendap. Sebanyak 1 mL cairan sampel diambil dan diencerkan dengan air steril sebanyak 4 mL untuk selanjutnya diberikan praperlakuan, yaitu dengan memanaskannya pada suhu 50°C selama 10 menit.

Cairan sampel yang telah dilakukan praperlakuan selanjutnya diencerkan dari seri 10⁻¹ sampai dengan 10⁻⁵. Selanjutnya sebanyak 1 mL sampel yang telah diencerkan disebarkan pada permukaan agar medium SNA dengan komposisi medium sebagai berikut: *Soluble starch* 20 g, KNO₃ 1 g, K₂HPO₄ 0,5 g, MgSO₄·7H₂O 0,5 g, NaCl 0,5 g, FeSO₄ 0,01 g, Agar 15 g, Air laut 1 L. Medium tersebut kemudian ditambahkan 25 µg/ml Nistatin sebagai antifungi setelah medium agar disterilkan.

Inkubasi dilakukan pada suhu 30°C selama 21 hari. Koloni aktinomisetes yang tumbuh dipisahkan dan dipindahkan ke dalam medium SNA yang baru hingga diperoleh koloni tunggal. Koloni yang telah murni selanjutnya dipindahkan ke dalam medium SNA miring untuk digunakan pada penelitian selanjutnya.

Penentuan Aktivitas Antibakteri MDR

Penentuan aktivitas antibakteri MDR dilakukan dengan metode uji antagonis dengan cara semua isolat aktinomisetes ditumbuhkan ke dalam media SNA, kemudian cakram aktinomisetes yang berumur 7 hari inkubasi pada media SNA ditempatkan di permukaan media NA (*Nutrient Agar*) yang telah berisi bakteri uji, yaitu *Escherichia coli* MDR dan *Staphylococcus aureus* MDR pada cawan terpisah.

Selanjutnya, inkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Masing-masing isolat diamati kemampuannya menghambat bakteri uji yang ditandai dengan terbentuknya zona jernih di sekitar cakram uji.

Persiapan Ekstrak Hasil Fermentasi

Isolat dengan daya hambat yang paling kuat dibuat prekulturr pada labu Erlenmeyer 500 mL yang mengandung 100 mL medium cair SNB (*Starch Nitrate Broth*) dan diinkubasi pada suhu 28°C selama 3 hari. Prekultur (*starter*) dipindahkan ke dalam Erlenmeyer 500 mL yang mengandung 100 mL medium yang sama. Medium di atur pada pH 7,6. Fermentasi dilakukan pada suhu 28°C selama 11 hari pada kondisi tergojok pada laju penggojokan 150 rpm. Setelah fermentasi selama 11 hari, media pertumbuhan mikrobia disaring untuk memisahkan biomassa dan cairan fermentasi. Cairan fermentasi diekstraksi 2 kali dengan pelarut etil asetat (1:1 v/v) dalam corong pisah selama 20 menit. Ekstrak yang diperoleh diuapkan lalu disimpan pada desikator untuk digunakan pada uji selanjutnya

Penentuan KHM

Ekstrak etil asetat dibuat serangkaian konsentrasi menurun yaitu dari konsentrasi konsentrasi 3%, 1,5%, 0,75%, 0,375%, dan 0,1875% menggunakan pelarut etil asetat. Masing-masing konsentrasi diuji aktivitas antibakterinya menggunakan metode difusi agar. Sebanyak 15 µL ekstrak dari masing-masing konsentrasi diteteskan pada kertas cakram diameter 6 mm. Setelah pelarut menguap, masing-masing kertas cakram diletakkan di permukaan medium NA yang telah diinokulasi bakteri uji. Zona hambat yang terbentuk pada masing-masing konsentrasi diukur diameternya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengambilan sampel dilakukan pada 3 titik kedalaman, yaitu sekitar 20 cm, 50 cm, dan 1 m dari permukaan laut. Titik koordinat sampel A yaitu S= 05°20.424, E= 119°21.527, titik koordinat sampel B yaitu S= 05°20.385, E= 119°21.432, dan titik koordinat sampel C yaitu S= 05°20.378, E= 119°21.348. Sampel diisolasi dengan pra-perlakuan berupa pemanasan suspensi sampel pada suhu 50°C selama 10 menit dengan menggunakan medium SNA yang telah ditambahkan nistatin. Praperlakuan menggunakan pemanasan pada suhu 50°C efektif dalam meminimalkan pertumbuhan bakteri [4], sementara penambahan Nistatin efektif dalam meminimalkan pertumbuhan fungi [14]. Hal tersebut dibuktikan dari hasil isolasi yang tidak memperlihatkan adanya kontaminasi bakteri dan fungi. Dari hasil isolasi diperoleh 3 isolat aktinomisetes dengan kode isolat masing-masing GLS 1-5-1, GLS 50-2-1, dan GLS 50-2-2. Kedua isolat berasal dari sampel sedimen laut pada kedalaman 1 m dpl. Hal ini dipengaruhi oleh kekuatan ombak yang lebih mampu menimbulkan kondisi dinamis terhadap sedimen laut pada kedalaman laut 20 cm dan 50 cm dpl [13].

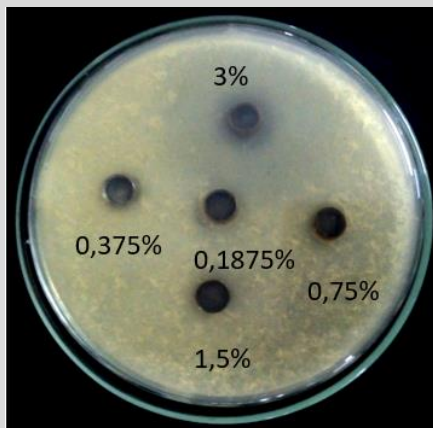
Uji antagonis menunjukkan isolat GLS 50-2-2 merupakan isolat yang aktif terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap antibiotika Oxacyclin, Ciprofloxacin, Ceptriazone, Sulbactam Ampicilin, Bacitracin, Ceforoxime, dan Cefotaxime (**Gambar 1**). Isolat GLS 50-2-2 memiliki karakteristik koloni berwarna putih keabu-abuan dengan permukaan berpasir (**Gambar 2**). Fermentasi isolat GLS 50-2-2 dilakukan selama 11 hari menggunakan medium SNB yang selanjutnya diekstraksi dengan menggunakan etil asetat. Bobot ekstrak yang diperoleh dari 100 ml medium fermentasi adalah 40 mg. Isolat GLS 50-2-2 menghasilkan pigmen biru yang tidak larut dalam air namun larut dalam etil asetat. Karakteristik pigmen yang dimiliki mirip dengan



Gambar 1. Hasil uji antagonis terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* MDR (Oxacyclin, Ciprofloxacin, Ceptriazone, Sulbactam Ampicilin, Bacitracin, Ceforoxime, dan Cefotaxime)



Gambar 2. Karakteristik isolat GLS 50-2-2



Gambar 3. Hasil uji KHM Isolat GLS 50-2-2 terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* MDR

pigmen yang dihasilkan oleh aktinomisetes isolat GLS-01 yang juga diperoleh dari sedimen laut Pantai Galesong [13]. Uji KHM dilakukan pada konsentrasi 3%, 1,5%, 0,75%, 0,375%, dan 0,1875% terhadap bakteri uji *Staphylococcus*

aureus MDR dengan zona bening yang hanya diperlihatkan oleh konsentrasi 3% dan 1,5% dengan diameter daya hambat berturut-turut 24 mm dan 14 mm (**Gambar 3**). Hasil uji KHM isolat GLS 50-2-2 menunjukkan bahwa isolat GLS 50-2-2 belum dapat digolongkan sebagai antibiotik melainkan hanya berupa antibakteri saja karena nilai KHM yang masih sangat tinggi. Hal ini dapat terjadi karena ekstrak yang diperoleh masih berupa ekstrak kasar dan belum merupakan senyawa murni [5].

KESIMPULAN

Isolat aktinomisetes GLS 50-2-2 yang diperoleh dari sedimen laut Pantai Galesong Kabupaten Takalar memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* yang resisten terhadap antibiotika Oxacyclin, Ciprofloxacin, Ceptriazone, Sulbactam Ampicilin, Bacitracin, Ceforoxime, dan Cefotaxime.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih pada Universitas Hasanuddin yang telah menyediakan sarana dan prasarana untuk mendukung pelaksanaan penelitian ini..

DAFTAR PUSTAKA

- Jamil, Kurnia F. 2010. *Penyakit Infeksi (Online)*, (<http://slideshare.net/MuhammaddTaqwan/penyakit-infeksi-urkurnia-fiamilmkessppdkptifinasim.html>, Diakses 11 Oktober 2013).
- Ganiswara, G.S. 2009. *Farmakologi dan Terapi* Edisi V. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Hal.585.
- Wardani, K.A. 2008. *Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Residu Ekstrak Etanolik Daun Arbenan (Duchesnea indica (Andr.) Focke.) Terhadap Staphylococcus aureus dan Pseudomonas aeruginosa. Multi Resistensi Antibiotika Beserta Profil Kromatografi Lapis Tipis.* Skripsi Fak.Farmasi, UMS. Surakarta.
- Sunaryanto, R., Marwoto, B., Irawadi, T.T., Mas'ud, Z.A., dan Hartoto L. 2011. *Isolasi, Purifikasi, Identifikasi, dan Optimasi Medium Fermentasi Antibiotik yang Dihasilkan oleh Aktinomisetes Laut.* Disertasi Program Pascasarjana IPB, Bogor.
- Herlina R, Wahyono, Yosi B Murti, dan Gemini Alam. 2010. *Purifikasi dan Karakterisasi Senyawa Antibakteri dari Actinomycetes Asosiasi Spons Terhadap Bakteri Patogen Resistendalam Majalah Farmasi Indonesia*, 21 (3).Hal.159-160.
- Merdekawaty, Latifah. 2011. *Identifikasi Actinomycetes yang Terdapat pada Tanah di Sekitar Danau Lindu.* Skripsi F.MIPA, UNTAD, Palu.
- Valli, Sugasini S., Aysha OS., Nirmala P., Kumar P., dan Reena A. 2012. *Antimicrobial Potential of Actinomycetes species Isolated from Marine Environment* dalam Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine (2012). Hal.469-473.
- Kelecom, A. 2002. *Secondary Metabolites from Marine Microorganisms* dalam An. Acad. Bras.Cienc.74 (1).Hal.151-170.
- William, P.G., Buchanan, G.O., Feling, R.H., Kauffman, C.A., Jensen, P.R., dan Fenical. W. 2005. *New Cytotoxic Salinisporamides from The Marine Actinomycetes Salinispora tropica* dalam J. Org Chem. 70. Hal. 6196-6203.
- Ward, A.C. dan Naganami, B. 2006. *Diversity and Biogeography of Marine Actinobacteria* dalam Current Opinion in Microbiology, 9.Hal.279-286.
- Hasegawa, T., Tanida, S., dan Ono, H., 1986. *Thermomonospora formosensis sp.nov.* dalam International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 36 (1).Hal.20-23.
- Fenical, W. and Paul, R.J. 2006. *Developing A New Resource for Drug Discovery: Marine Actinomycetes Bacteria* dalam Nature Chemical Biology.2 (12).
- Burhamzah R., Djide N., Rante H., dan Zainuddin EN. 2016. Isolation and screening of antimicrobial-producing actinomycetes from marine sediment of galesong coast, indonesia. *Asian jr. of microbial. Biotech. Env. Sc. Vol 18, no (1) : 2016 : 31-34.*
- Pisano MA, Michael JS, Madelyn ML. 1986. *Application of Pretreatments for The Isolation of Bioactive Actinomycetes from Marine Sediments* dalam Appl Microbiol Biotechnol, 25.Hal.285-288.